

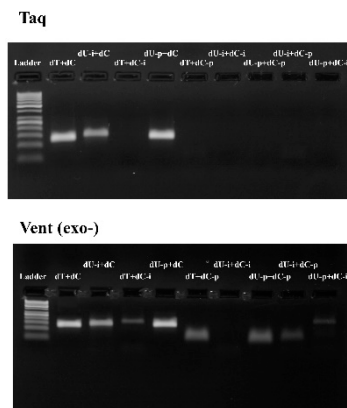
DR-6

**ПРИМЕНЕНИЕ ПЦР ДЛЯ ОДНОВРЕМЕННОЙ МОДИФИКАЦИИ ДНК
СИНТЕТИЧЕСКИМИ ПРОИЗВОДНЫМИ РАЗНОИМЕННЫХ
ПИРИМИДИНОВЫХ НУКЛЕОТИДОВ****А. В. Чудинов¹, О. С. Волкова¹, В. Е. Шершов¹, В. Е. Кузнецова¹, С. А. Лапа¹**

¹ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН,
119991, Россия, Москва, ул. Вавилова, 32. E-mail: chud@eimb.ru

Модифицированные ДНК применяют при создании молекулярных сенсоров, зондов и модифицированных аптамеров [1]. Наиболее широко применяются ферментативные методы получения модифицированных ДНК. Одновременная модификация ДНК различными производными нуклеотидов позволит расширить спектр свойств получаемых молекул благодаря возможности введения модификаций с различными свойствами в одну молекулу ДНК. Адаптация ПЦР для осуществления задачи позволит сократить время реакции и существенно повысить выход целевого продукта.

Проведено исследование субстратных свойств 2'-дезоксигуанидин- и 2'-дезокситидин-5'-трифосфатов, модифицированных по 5-му положению пиримидинового цикла, в ПЦР при полной замене природных аналогов. Получены фрагменты ДНК, модифицированные одновременно двумя типами нуклеотидов как с аналогичными, так и с различными функциональными группами. В качестве матрицы применяли фрагмент гена *groV M. tuberculosis* длиной 126 п.о [2], использовали ДНК-полимеразы Taq и Vent (exo-). На рис. 1 показан результат ПЦР как для индивидуального применения разноименных нуклеотидов, так и для совместного их введения в различных комбинациях.



Анализ методом ПЦР в режиме реального времени показывает, что производные с менее объемными функциональными группами (dU-p и dC-p) демонстрируют высокую скорость накопления продукта, в то время как массивные (dU-i и dC-i) демонстрируют либо пологую кривую накопления сигнала, либо задержку порогового цикла (C_t). Показана возможность применения полимеразы Vent (exo-) в ПЦР для одновременного введения разноименных модифицированных трифосфатов дезоксинуклеозидов. Эффективность амплификации зависит от природы введенных модификаций.

Рисунок 1 – ПЦР с применением бактериальной ДНК-матрицы. Сверху каждой фореграммы указана использованная полимеразы. Окрашивание бромистым этидием.

Библиографический список

1. The Toolbox for Modified Aptamers / S. A. Lapa, A. V. Chudinov, E. N. Timofeev [et al.] // Mol Biotechnol. – 2016. Vol. 58, Iss. 2. – P. 79–92.
2. Identification of rifampin-resistant Mycobacterium tuberculosis strains by hybridization, PCR, and ligase detection reaction on oligonucleotide microchips / V. Mikhailovich, S. Lapa, D. Gryadunov [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2001. Vol. 39, Iss. 7. – P. 2531–2540.

Исследование поддержано грантом РФФИ № 19-04-01217.